

### BAB III

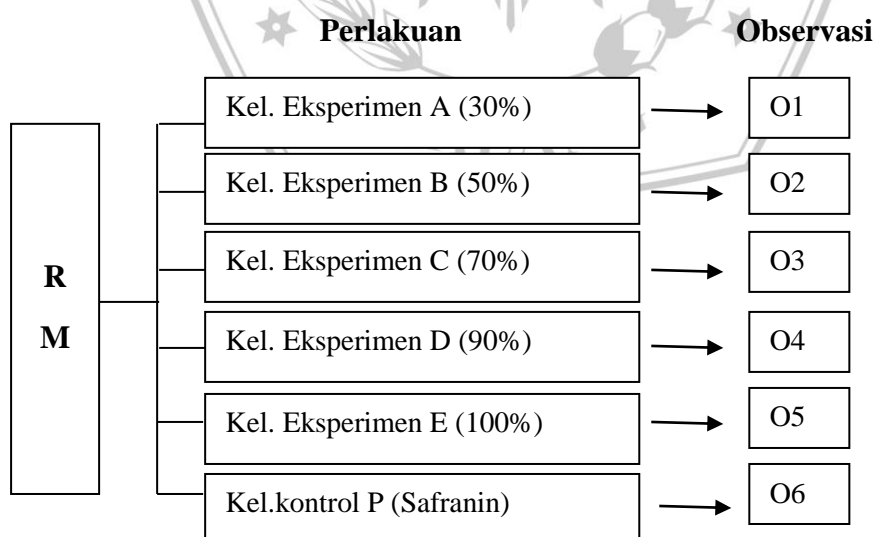
#### METODE PENELITIAN

##### 3.1 Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen sesungguhnya dan pendekatan penelitian yaitu kuantitatif. Penelitian ini akan meneliti kualitas preparat yang menggunakan pewarna ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan berbagai konsentrasi.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah “*The Posttest-Only Control Group Design*”. Penelitian menggunakan 6 kelompok perlakuan yaitu 5 perlakuan uji yaitu konsentrasi ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) (30% = A, 50%=B, 70%=C, 90%=D, dan 100%=E ) dan 1 perlakuan kontrol positif (P) dengan masing-masing perlakuan yaitu 4 kali ulangan.

**Gambar 3.1 Rancangan “*The Posttest-Only Control Group Design*”**



### 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang yang beralamat di Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang dan Materia Medica Batu yang beralamat di Jl. Lahor No.27 Pesanggrahan Batu. Waktu pelaksanaan penelitian di Laboratorium Biologi UMM berlangsung pada tanggal 29 Maret-3 April 2019

### 3.3 Populasi, Teknik Sampling, dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah batang tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diambil di Mayjen panjaitan gang 17 B Malang.

#### 3.3.2 Teknik Sampling

Teknik sampling merupakan suatu teknik untuk pengambilan sampel. Penelitian ini menggunakan teknik sampling berupa *Random sampling* yaitu dengan mengambil batang tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) yang masih muda (15 cm dari pucuk apikal) sebagai bahan untuk membuat preparat maserasi.

#### 3.3.3 Sampel

Sampel dalam penelitian ini batang muda tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 4 kali ulangan.

Pengambilan sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut;

$$(r - 1) (t - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) (6 - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) 5 \geq 15$$

$$(r - 1) \geq 15 \div 5$$

$$(r - 1) \geq 3$$

$$r \geq 3 + 1$$

$$r \geq 4$$

$$r = 4$$

$$n = t.r$$

$$n = 6.4$$

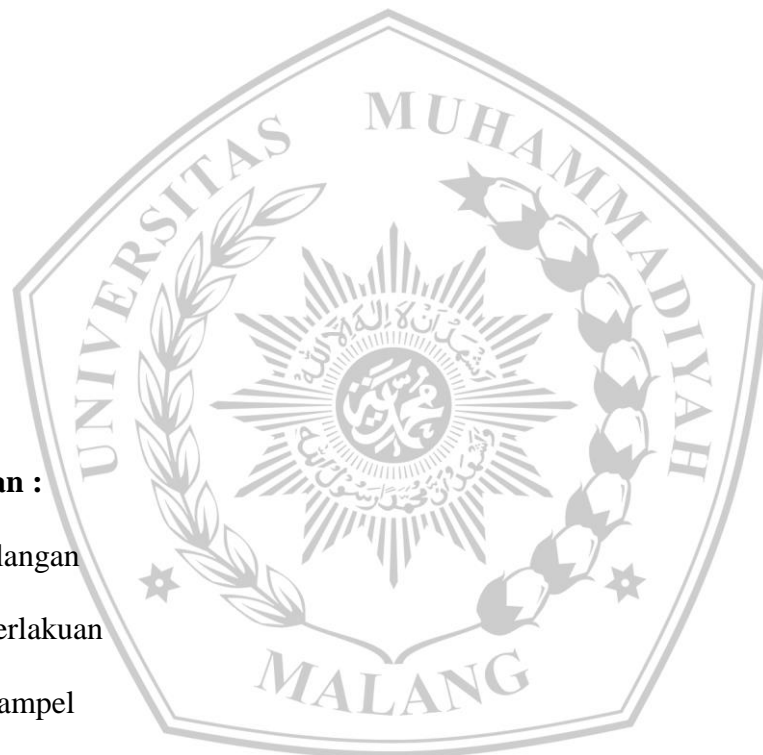
$$n = 24$$

**Keterangan :**

r:jumlah ulangan

t:jumlah perlakuan

n:jumlah sampel



Hasil dari perhitungan di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian terdiri atas 24 preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) yang terdiri atas 6 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan konsentrasi 30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 4 kali pengulangan

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Jenis Variabel

Penelitian ini menggunakan beberapa jenis variabel sebagai berikut;

1. Variabel bebas (*independen*)

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan berbagai konsentrasi yaitu 30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%.

2. Variabel terikat (*dependen*)

Penelitian ini menggunakan variabel terikat adalah kualitas preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.).

3. Variabel kontrol

Penelitian ini menggunakan variabel kontrol berupa pH ekstrak, jenis dan konsentrasi pelarut ekstrak, dan umur batang sirih hijau (*Piper betle* L.).

#### 3.4.2 Definisi Operasional variabel

Penelitian ini menggunakan beberapa istilah dalam setiap variabel, supaya tidak terjadi kesalahan makna atau konsep maka perlu didefinisikan beberapa istilah sebagai berikut;

1. Ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.)

Ekstrak dalam penelitian ini menggunakan bagian dari bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli*). Ekstraksi bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi atau ekstraksi dingin, dimana bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dicuci bersih,

dikeringakan (simplisia), dihaluskan, kemudian diberi larutan etanol 96% + asam sitrat 3% selama 72 jam dan disimpan ditempat gelap dengan suhu ruang (25°C), ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring, selanjutnya larutan yang terekstrak dipanaskan menggunakan rotary evaporator sampai menjadi cairan kental selama 3 jam. Cairan kental atau ekstrak dilakukan pengenceran menjadi beberapa konsentrasi dengan menggunakan aquades. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian adalah 30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%.

## 2. Preparat maserasi

Preparat maserasi merupakan suatu sediaan yang dibuat dari batang untuk mengamati bagian secara utuh dari jaringan pembuluh atau trakea. Penelitian ini menggunakan batang sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagian bahan utama pembuatan preparat maserasi.

3. Jenis pelarut dan konsentrasi pelarut yang digunakan ekstrak ialah etanol 96% + asam sitrat 3 %. pH ekstrak yang digunakan yaitu 4 (bersifat asam).

## 3.5 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini ialah menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 1 faktor yaitu faktor konsentrasi ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.). Rancangan ini terdiri dari 6 perlakuan dengan 4 kali ulangan didapatkan hasil pengundian dan telah disajikan dalam Tabel 3.1.

**Tabel. 3.1 Denah Rancangan Acak Lengkap**

P1	E4	B2	B3	C2	A1
C4	P2	D2	E2	P4	C1
B1	D1	P3	A2	D3	E1
E3	A3	C3	D4	A4	B4

**Keterangan :**

P : Kontrol positif (pemberian pewarna safranin)

A : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak bunga dadap merah 30%

B : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak bunga dadap merah 50%

C : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak bunga dadap merah 70%

D : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak bunga dadap merah 90%

E : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak bunga dadap merah 100%

1 : Ulangan 1

2 : Ulangan 2

3 : Ulangan 3

4 : Ulangan 4

### 3.6 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dibagi menjadi 3 tahapan yaitu tahap persiapan, tahap pelaksanaan dan tahap pengamatan.

#### 3.6.1 Tahap Persiapan

1. Menyiapkan alat yang akan digunakan dalam penelitian. Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut;

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) sebagai berikut;

a. Erlenmeyer	: 6 buah	f. Kompor listrik	: 1 buah
b. Corong kaca	: 1 buah	g. Ekstrator soxlet	: 1 buah
c. Beaker glass	: 2 buah	h. Evaporator/destilator	: 1 buah
d. Kain saring	: 2 buah	i. Pengaduk	: 1 buah
e. Labu takar	: 1 buah	j. pH meter	: 1 buah

Alat yang digunakan untuk membuat preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai berikut;

a. Pisau/silet	: 2 buah	g. Pipet tetes	: 2 buah
b. Kaca penutup	: 24 buah	h. Kamera	: 1 buah
c. Kaca benda	: 24 buah	i. Kertas label	: 1 buah
d. Hotplate	: 1 buah	j. Jarum pentul	: 1 buah
e. Cawan petri	: 24 buah	k. Tisu	: 1 buah
f. Mikroskop binokuler	: 2 buah	g. Timbangan analitik	: 1 buah

2. Menyiapkan bahan yang digunakan dalam penelitian. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut;

Bahan yang digunakan untuk membuat ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) sebagai berikut;

- a. Bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) : 1000 gram
- b. Aquades : 200 ml
- c. Etanol 96% : 4000 ml
- d. Asam sitrat 3% : 120 gram

Bahan yang digunakan untuk membuat preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai berikut;

- a) Batang sirih hijau (*Piper betle* L.) : 200 gram
- b) Aquades : 250 ml
- c) Larutan KOH 10% : 250 ml
- d) Asam nitrat 10% : 20 ml
- e) Asam cromat 10% : 20 ml
- f) Larutan alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 100% : 250 ml
- g) Xylol : 500 ml
- h) Enthelen : 50 ml
- i) Safranin : 40 ml
- j) Ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan konsentrasi 30%, 50%, 80%, 90%, dan 100% : @40 ml



### 1.8.2 Tahap Pelaksanaan

#### a. Pembuatan Ekstrak Bunga Dadap Merah (*Erythrina crista-galli* L.)

Cara pembuatan ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan metode maserasi. Menurut (Kristina, Ariviani, & Khasanah, 2013), ekstraksi dapat dilakukan dengan cara kerja sebagai berikut;

1. Menimbang sejumlah 1000 gram bahan segar dari bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.).
2. Menghaluskan bahan dengan menggunakan blender
3. Memindahkan bahan yang telah dihancurkan pada erlenmeyer atau beaker glass
4. Menambahkan pelarut etanol 96% + asam sitrat 3% dan menyimpan cairan tersebut dalam tempat tertutup atau terhindar dari sinar matahari selama 72 jam.
5. Melakukan penyaringan bahan hingga semua cairan tersaring.
6. Analisis ekstrak terhadap pengaruh pH, jenis pelarut, konsentrasi, dan suhu ekstraksi.
7. Memindahkan cairan encer ke dalam labu destilasi atau evaporator, kemudian memasang labu pada perangkat destilasi atau evaporator.
8. Melakukan destilasi pada suhu titik didih pelarut sampai tertinggal cairan pekat pada labu destilasi atau evaporator, kemudian tunggu cairan dingin.
9. Memindahkan cairan pekat ke dalam botol atau wadah kaca yang telah dibersihkan atau disterilkan.

10. Mengencerkan ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.) dengan menggunakan aquades untuk konsentrasi 30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%.

Berikut merupakan perhitungan untuk pengenceran setiap konsentrasi ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L.).

Rumus pengenceran

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume yang dicari

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

V2 = Volume yang diinginkan

- a. Kosentrasi 30% didapatkan dari;

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

$$100 \cdot V1 = 30 \cdot 40 \text{ ml}$$

$$V1 = 1200 / 100$$

$$V1 = 12$$

Jadi, dibutuhkan 12 ml ekstrak bunga dadap merah + 28 ml Aquades

- b. Kosentrasi 50% didapatkan dari;

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

$$100 \cdot V1 = 50 \cdot 40 \text{ ml}$$

$$V1 = 2000 / 100$$

$$V1 = 20 \text{ ml}$$

Jadi, dibutuhkan 20 ml ekstrak bunga dadap merah + 20 ml Aquades

- c. Kosentrasi 70% didapatkan dari;

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

$$100 \cdot V1 = 70 \cdot 40 \text{ ml}$$

$$V1 = 2800 / 100$$

$$V1 = 28 \text{ ml}$$

Jadi, dibutuhkan 28 ml ekstrak bunga dadap merah + 12 ml Aquades

- d. Kosentrasi 90 % didapatkan dari;

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

$$100 \cdot V1 = 90 \cdot 40 \text{ ml}$$

$$V1 = 3600 / 100$$

$$V1 = 36 \text{ ml}$$

Jadi, dibutuhkan 36 ml ekstrak bunga dadap merah + 4 ml Aquades

- e. Kosentrasi 100% didapatkan dari;

$$N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$$

$$100 \cdot V1 = 100 \cdot 40 \text{ ml}$$

$$V1 = 4000 / 100$$

$$V1 = 40 \text{ ml}$$

Jadi, dibutuhkan 40 ml ekstrak bunga dadap merah

- b. Pembuatan preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.)

Menurut Wahyuni (2017), cara pembuatan preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle*) dilakukan dengan cara kerja sebagai berikut;

1. Mengiris organ batang sirih hijau (*Piper betle* L.) sepanjang 0,5 cm
2. Memasukan batang sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam beaker glass
3. Memberikan aquades, kemudian merebus di atas hotplate
4. Mendinginkan beberapa saat, selanjutnya aquades dibuang dan menggantin dengan KOH 10%
5. Merebus selama 3 menit
6. Memindahkan bahan ke cawan petri dan mencucinya dengan aquades
7. Menetesi dengan campuran asam nitrat 10%, asam kromat 10% yang masing-masing 1 tetes
8. Mencuci kembali dengan aquades

9. Menetesi dengan pewarna ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli*) dengan berbagai konsentrasi (30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%) dan pewarna safranin selama 1 jam
10. Mencuci dengan aquades
11. Mendehidrasi dengan alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 100%, dan 100% masing-masing selama 3 menit
12. Mendealkoholisasi campuran alkohol xylol 3:1, 1:1, dan 1:3 masing masing selama 3 menit.
13. Memindahkan bahan ke gelas benda
14. Menetesi dengan xylol murni I selama 3 menit
15. Menetesi dengan xylol II dan langsung memberikan entellan kemudian menutup dengan menggunakan kaca penutup
16. Mengamati preparat dengan menggunakan mikroskop.

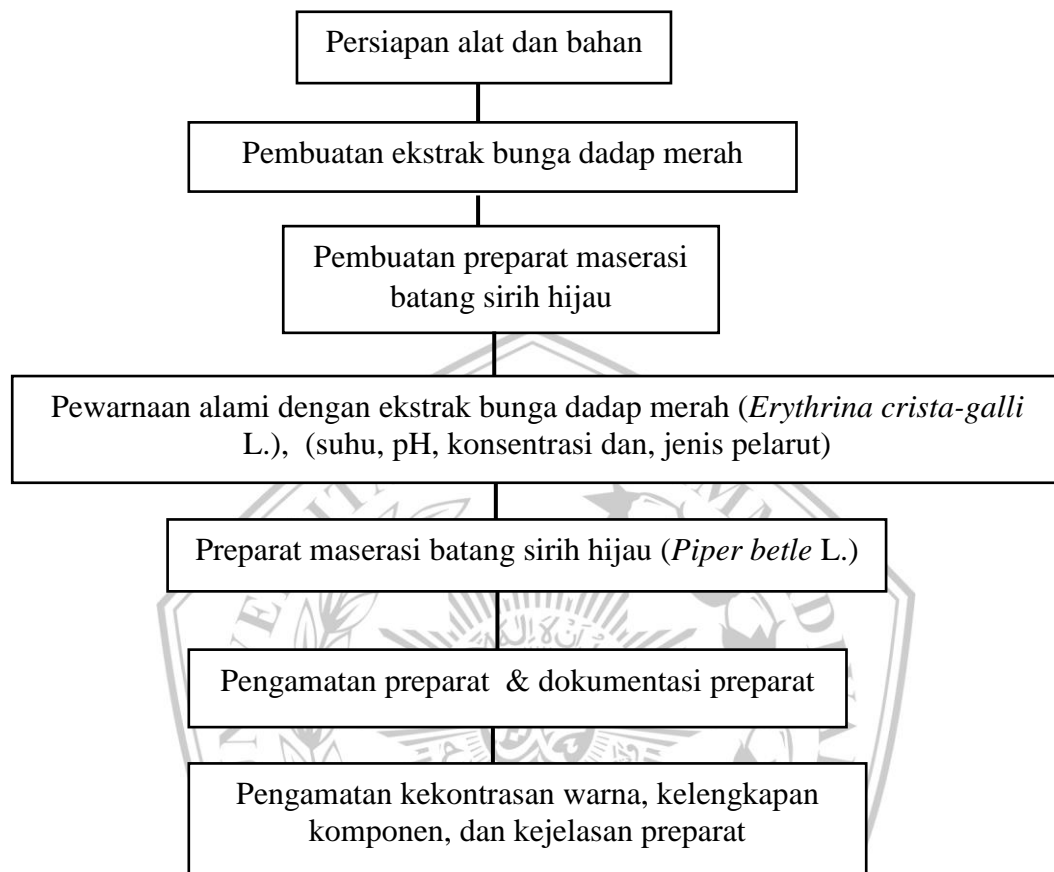
### 3.6.2 Tahap Pengamatan

Adapun tahap pengamatan yang perlu harus dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut;

1. Mengamati preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) yang sudah diberi perlakuan pada mikroskop binokuler.
2. Mengambil gambar hasil pengamatan yang ada di mikroskop dengan menggunakan kamera.

### 3.7 Kerangka Kerja Penelitian

Kerangka kerja yang dilakukan dalam penelitian ini telah disajikan dalam Gambar 3.2.



**Gambar 3.2 Skema prosedur penelitian**

### 4.6 Metode Pengumpulan Data

#### 4.6.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan dengan beberapa cara, yaitu (1) pengamatan langsung (observasi) pada hasil penelitian preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) di mikroskop binokuler Olympus, (2) dokumentasi atau mempotret hasil preparat di mikroskop dengan menggunakan kamera digital yang nantinya akan dicetak dan dijadikan sebagai bahan analisis dalam menentukan kualitas preparat oleh tim validasi yang dipilih berdasarkan

keahlian dalam bidang mikroteknik, dan (3) menggunakan metode skala berupa *rating scale* sebagai bentuk cara untuk mengetahui hasil pewarnaan yang diterapkan dalam preparat maserasi sirih hijau (*Piper betle* L.). Lembar penilaian akan diisi oleh panelis yang ahli dalam preparat (mikroteknik) yaitu instruktur Laboratorium Biologi dan hasil dari angket berupa skor (nilai) terhadap kualitas preparat (kejelasan preparat, kelengkapan komponen, dan kekontrasan warna preparat).

#### **4.6.2 Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini ada tiga aspek yaitu penilaian dalam segi kejelasan preparat, kelengkapan komponen jaringan dan kekontrasan warna preparat. Instrumen telah disajikan dalam Tabel 3.2 dan 3.3 serta indikator disajikan dalam Tabel 3.4, 3.5, dan 3.6.



**Tabel 3.2**  
**Penilaian hasil kejelasan, kelengkapan, dan kekontrasan ekstrak bunga**  
**dadap merah (*erythrina crista-galli* L.) terhadap kualitas preparat maserasi**  
**batang sirih hijau (*piper betle* L.)**

No.	Kelompok	Ulangan	Kualitas		
			Kejelasan preparat	Kekontrasan preparat	Kelengkapan komponen
1.	A (30%)	1			
2.		2			
3.		3			
4.		4			
5.	B (50%)	1			
6.		2			
7.		3			
8.		4			
9.	C (70%)	1			
10.		2			
11.		3			
12.		4			
13.	D (90%)	1			
14.		2			
15.		3			
16.		4			
17.	E (100%)	1			
18.		2			
19.		3			
20.		4			

**NB: Pengisian dengan memberi skor (1-5) sesuai dengan indikator**

**Tabel 3.3**  
**Penilaian hasil kejelasan, kelengkapan, dan kekontrasan pewarna**  
**safranin terhadap kualitas preparat maserasi batang sirih hijau**  
**(*Piper betle* L.)**

No.	Kelompok	Ulangan	Kualitas		
			Kejelasan Preparat	Kekontrasan Preparat	Kelengkapan komponen
1.	Safranin	1			
2.		2			
3.		3			
4.		4			

**NB: Pengisian dengan memberi skor (1-5) sesuai dengan indikator**

Indikator penilaian dapat dijabarkan sebagai berikut :

**Tabel 3.4**  
**Kejelasan Preparat \***

Skor	Kriteria	Keterangan
1	Tidak jelas	Apabila bagian-bagian atau kenampakan pembuluh jaringan trakea (unsur xilem) tidak dapat terlihat jelas.
2	Kurang jelas	Apabila bagian-bagian atau kenampakan pembuluh jaringan trakea (unsur xilem) kurang dapat terlihat jelas.
3	Jelas	Apabila bagian-bagian atau kenampakan pembuluh jaringan trakea (unsur xilem) dapat terlihat jelas.
4	Cukup jelas	Apabila bagian-bagian atau kenampakan pembuluh jaringan trakea (unsur xilem) cukup dapat terlihat jelas.
5	Sangat jelas	Apabila bagian-bagian atau kenampakan pembuluh jaringan trakea (unsur xilem) dapat terlihat sangat jelas.

**(Sumber : Astuti, 2017)**



**Tabel 3.5**  
**Kekontrasan Pewarna Preparat\***

Skor	Kriteria	Keterangan
1	Tidak kontras	Apabila pewarna tidak dapat terikat dengan kuat pada jaringan pembuluh trakea (unsur xilem).
2	Kurang kontras	Apabila pewarna kurang dapat terikat dengan kuat pada jaringan pembuluh trakea (unsur xilem).
3	Kontras	Apa Apabila pewarna dapat terikat dengan kuat pada jaringan pembuluh trakea (unsur xilem)..
4	cukup kontras	Apabila pewarna cukup dapat terikat dengan kuat pada jaringan pembuluh trakea (unsur xilem)..
5	Sangat kontras	Apabila pewarna dapat terikat dengan sangat kuat pada jaringan pembuluh trakea (unsur xilem).

(Sumber : Astuti, 2017 )

**Tabel 3.6**  
**Kelengkapan komponen Preparat\***

Skor	Kriteria	Keterangan
1	Tidak lengkap	Apabila komponen jaringan pembuluh trakea (dinding primer, dinding sekunder, dan tipe penebalan) tidak terlihat semua
2	Kurang lengkap	Apabila komponen jaringan pembuluh trakea (dinding primer, dinding sekunder, dan tipe penebalan) kurang terlihat semua
3	Lengkap	Apabila komponen jaringan pembuluh trakea (dinding primer, dinding sekunder, dan tipe penebalan) lengkap terlihat
4	Cukup lengkap	Apabila komponen jaringan pembuluh trakea (dinding primer, dinding sekunder, dan tipe penebalan) cukup lengkap terlihat semua
5	Sangat engkap	Apabila komponen jaringan pembuluh trakea (dinding primer, dinding sekunder, dan tipe penebalan) sangat lengkap terlihat semua

(Sumber : Astuti, 2017 )

#### 4.7 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik terkait hasil rerata kualitas preparat maserasi batang sirih hijau (*Piper betle* L.) yang telah diwarnai dengan ekstrak bunga dadap merah (*Erythrina crista-galli* L) dengan berbagai variasi konsentrasi (30%, 50%, 70%, 90%, dan 100%). Analisis data yang digunakan adalah uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Teknik analisis data yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu;

##### 1. Uji Kruskal Wallis

Pemilihan uji ini dilakukan karena data yang diperoleh itu bersifat ordinal, yaitu berupa skor atau tingkatan kriteria terhadap kualitas preparat yang diberikan perlakuan 1 faktor berupa variasi konsentrasi pewarna 30%, 50%, 70%, 90%, dan 100% (Harinaldi, 2005).

**Analisis hipotesa uji Kruskal Wallis didasarkan atas;**

$H_0$  : populasi identik (tidak berbeda secara signifikan)

$H_1$  : populasi tidak identik (data berbeda secara signifikan)

**Kriteria pengambilan keputusan uji Kruskal Wallis didasarkan atas :**

➤ Nilai  $F_{hit}$  dan  $F_{tabel}$

- a. Jika  $F_{hit} < F_{tabel}$ , Maka  $H_0$  diterima
- b. Jika  $F_{hit} > F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak

➤ Nilai probabilitas (Sig.) :

- a. Jika nilai probabilitas (Sig.)  $> 0.05$ , maka  $H_0$  diterima
- b. Jika nilai probabilitas (Sig.)  $< 0.05$ , maka  $H_0$  ditolak

## 2. Uji Mann-Whitney (Uji lanjut)

Uji lanjut ini dilakukan untuk menguji rata-rata dari dua sampel yang berukuran tidak sama, sehingga dapat mengetahui pengaruh yang terbaik dari berbagai perlakuan (Saleh, 1986).

➤ Hipotesis uji Mann-Whitney (Uji lanjut) yaitu;

- a.  $H_0$  : populasi identik (tidak berbeda secara signifikan)
- b.  $H_1$  : populasi tidak identik (data berbeda secara signifikan)

Hasil keputusan uji Mann-Whitney (uji lanjut) didasarkan atas nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed), yaitu;

- a. Jika nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed)  $> 0.05$ , maka  $H_0$  diterima
- b. Jika nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed)  $< 0.05$ , maka  $H_0$  ditolak

